

別紙 1

論文審査の要旨

報告番号	甲 第 2773 号	氏 名	新井 宏
論文審査担当者	主査 教授 美島 健二		
	副査 教授 代田 達夫		
	副査 教授 桑田 啓貴		
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学位申請論文「Effect of minodronate, a nitrogen-containing bisphosphonate, on collagen-induced arthritis model mice」について、上記の主査1名、副査2名が個別に審査を行った。</p> <p>【目的】本研究では、リウマチ性関節炎における窒素含有型ビスホスホネート（NBP）投与の影響を解析する目的で、コラーゲン誘導型関節炎（CIA）マウスに NBP の 1 つであるミノドロネート（MIN）を投与し、骨破壊および炎症に対する影響について解析した。</p> <p>【方法】8 週齢雄性 DBA/1 マウスに、ウシⅡ型コラーゲンと完全フロインドアジュバントを等量混合したエマルジョン（50 μ l/マウス）を皮内投与し CIA を誘導した。2 次感作後 2, 4, 8 週で MIN 投与群と非投与群の試料採取を行った。</p> <p>【結果】関節炎スコアでは、MIN 投与群が非投与群よりも全ての期間で高いスコアを示し、MIN 投与群において成長板および骨梁骨の残存が見られた。さらに、MIN 投与群では膝関節滑膜および関節腔への持続的な好中球の浸潤が認められた。RT-PCR 解析で、MIN 投与群と非投与群滑膜では MMP3, 9, 13mRNA 発現がどちらにも認められた。一方で、持続的な IL-1 β, TNF-α および IL-17mRNA 発現が MIN 投与群において強く認められた。さらに、リアルタイム RT-PCR 解析で、MIN 投与群滑膜組織では IL - 17mRNA 発現の上昇が強く認められた。</p> <p>【考察】これらの結果より、MIN は TNF-α や IL-17 のような炎症性サイトカインを介して炎症を持続的に誘発することで炎症性骨疾患の症状を増悪させる可能性が示唆された。</p> <p>本論文の審査にあたり多くの質問があり、その一部とそれらに対する回答を以下に示す。</p> <p>副査 代田委員の質問とそれらに対する回答：</p> <ul style="list-style-type: none">・正常なマウスに minodronate を投与した場合には膝関節に変化は見られるか。炎症の誘導は起こり、骨髄での好中球造血亢進等は観察されるが、膝関節部でのパンス形成や軟骨・骨破壊は引き起こされず、正常なマウスの膝関節部の増悪に影響がないことが確認された。・好中球が骨髄内、関節包内に著明に浸潤している現象をどのように考察するか。			

(主査が記載)

一般に関節炎では、滑膜内への好中球浸潤と関節腔内への浸潤が認められる。したがって、本結果は、minodronateにより一層炎症が増悪した結果であると考える。関節腔内に多数の好中球浸潤を認め、関節軟骨の表層からの破壊、更に軟骨表面への好中球の存在を考え合わせると軟骨破壊に関与していると考える。

副査 桑田委員の質問とそれらに対する回答：

- ・ DBA/1J マウスのコラーゲン誘導型関節炎モデルとしてのメリットは何か。

コラーゲン誘導型関節炎モデル (CIA) は、これまで広く関節炎モデルとして使用されてきている。ヒト関節炎特にムチラン型関節炎に類似した滑膜肥厚、関節破壊を誘導する系として有効であると考える。近年、抗Ⅱ型コラーゲン抗体による関節炎誘導モデルも開発されているが、この系では滑膜肥厚は認められるものの骨破壊は顕著でない。したがって、CIAモデルを本研究で採用した。

- ・ 滑膜組織における TNF- α 産生細胞は何か

関節炎のような炎症症状を引き起こしている滑膜組織において、主な TNF- α 産生細胞は滑膜線維芽細胞、マクロファージ、T細胞およびB細胞であるという報告がある。本研究において、滑膜中のマクロファージの増減については解析していないが、産生主細胞はマクロファージであると考える。

- ・ γ δ TCR 陽性 T 細胞の役割は何か

γ δ TCR 陽性 T 細胞が関節炎の増悪に関与している報告がある。本研究では、MIN 投与によって、滑膜内での γ δ TCR 陽性 T 細胞が増加していることが観察された。このことは、本細胞が関節炎の持続、増悪に関与しているものと考える。

主査 美島委員の質問とそれらに対する回答：

- ・ MIN 投与群の関節において軟骨の肥厚がみられるが、その理由は何か。

本研究結果において、MIN 投与によって、破骨細胞の骨吸収が抑制されたため、脛骨成長板下における骨梁骨の残存や骨梁骨の成長板側の骨化帯が多く認められたと考えられる。

- ・ MIN による IL-17 産生 T 細胞誘導メカニズムについて述べよ。

窒素含有ビスホスホネート製剤はコレステロール合成系の FPP-synthase 活性を抑制する。その結果、Isopentenyl pyrophosphate (IPP)が増える。この IPP が炎症を惹起し、また、 γ δ T 細胞を増やすことが知られている。ビスホスホネートそのものが γ δ T 細胞を増殖するという報告もなされている。関節炎では、IL-17 産生 T 細胞が関節炎の増悪に関与していることが注目されて来ていることを考え合わせると、ビスホスホネートによる γ δ T 細胞増殖が IL-17 産生 T 細胞の誘導に関与していると考える。

主査の美島委員は、両副査の質問に対する回答の妥当性を確認するとともに、本論文の主張をさらに確認するために上記の質問をしたところ、明確かつ適切な回答が得られた。

以上の審査結果から、本論文を博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。

（主査が記載）